



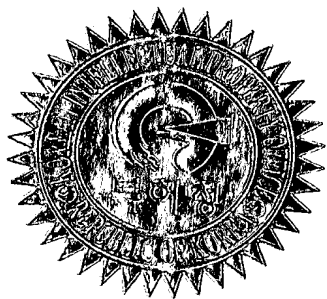
별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2003-0023979
Application Number

출원 년 월 일 : 2003년 04월 16일
Date of Application

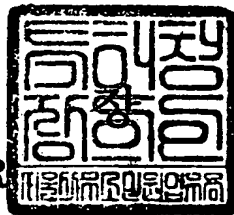
출원인 : 삼성전자주식회사
Applicant(s) SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.



2003 년 05 월 13 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0004
【제출일자】	2003.04.16
【국제특허분류】	C12Q
【발명의 명칭】	다층 박막 구조를 가진 DNA 칩
【발명의 영문명칭】	DNA chip having multilayer film structure
【출원인】	
【명칭】	삼성전자 주식회사
【출원인코드】	1-1998-104271-3
【대리인】	
【성명】	이영필
【대리인코드】	9-1998-000334-6
【포괄위임등록번호】	2003-003435-0
【대리인】	
【성명】	이해영
【대리인코드】	9-1999-000227-4
【포괄위임등록번호】	2003-003436-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	유재호
【성명의 영문표기】	YOU, Jae Ho
【주민등록번호】	690401-1057138
【우편번호】	150-073
【주소】	서울특별시 영등포구 대림3동 762-1 우성아파트 2동 1405호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	남승호
【성명의 영문표기】	NAM, Seung Ho
【주민등록번호】	600803-1009018
【우편번호】	463-070

【주소】	경기도 성남시 분당구 야탑동 536번지 탑마을 선경아파트 111동 704 호		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	최환영		
【성명의 영문표기】	CHOI, Hwan Young		
【주민등록번호】	610911-1481012		
【우편번호】	431-080		
【주소】	경기도 안양시 동안구 호계동 목련신동아아파트 901동 1903호		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	서오권		
【성명의 영문표기】	SEO, O Gweon		
【주민등록번호】	661130-1259017		
【우편번호】	449-020		
【주소】	경기도 용인시 김량장동 377-5 화흥아파트 404호		
【국적】	KR		
【발명자】			
【성명의 국문표기】	이상훈		
【성명의 영문표기】	LEE, Sang Hun		
【주민등록번호】	680726-1109012		
【우편번호】	137-844		
【주소】	서울특별시 서초구 방배1동 935-19		
【국적】	KR		
【심사청구】	청구		
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이영필 (인) 대리인 이해영 (인)		
【수수료】			
【기본출원료】	20	면	29,000 원
【가산출원료】	9	면	9,000 원

1020030023979

출력 일자: 2003/5/14

【우선권주장료】	0	건	0	원
【심사청구료】	11	항	461,000	원
【합계】	499,000			원
【첨부서류】	1.	요약서·명세서(도면)_1통		

【요약서】**【요약】**

다층 박막 구조를 가진 DNA 칩이 개시된다. 개시된 DNA 칩은, 기판과; 기판 상의 소정 위치에 순차 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막과 상대적으로 큰 굴절률을 가진 고굴절률 박막으로 이루어지며, 기판의 반사율보다 높은 반사율을 가지는 고반사 영역과; 기판 상에 고반사 영역 주위에 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막으로 이루어지며, 기판의 반사율보다 낮은 반사율을 가지는 저반사 영역과; 적어도 고반사 영역 위에 고정되는 DNA 프로브;를 구비하며, 상기 고반사 영역 위에서 DNA 프로브와 형광물질로 표지된 표적 DNA의 혼성화 반응이 일어나게 된다. 이와 같은 본 발명에 의하면, 혼성화 시그날의 검출 감도가 높아지게 되어 보다 정확한 혼성화 시그날을 얻을 수 있다.

【대표도】

도 4

【명세서】

【발명의 명칭】

다층 박막 구조를 가진 DNA 칩{DNA chip having multilayer film structure}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 종래의 DNA 칩의 일례를 개략적으로 도시한 사시도이다.

도 2는 도 1에 도시된 종래의 DNA 칩의 부분 단면도이다.

도 3은 본 발명의 바람직한 제1 실시예에 따른 DNA 칩의 평면 구조를 개략적으로 도시한 사시도이다.

도 4는 도 3에 도시된 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다.

도 5는 본 발명의 바람직한 제2 실시예에 따른 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다.

도 6은 본 발명의 바람직한 제3 실시예에 따른 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다.

도 7은 도 4에 도시된 본 발명의 제1 실시예에 따른 DNA 칩에서 고반사 영역의 반사율을 기판의 반사율과 비교하여 나타낸 그래프이다.

도 8은 도 4에 도시된 본 발명의 제1 실시예에 따른 DNA 칩에서 저반사 영역의 반사율을 기판의 반사율과 비교하여 나타낸 그래프이다.

<도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명>

100,200,300...DNA 칩

110,210,310...기판

121,221,321...제1 박막

122,222,322...제2 박막

123,223,323...제3 박막

130,230,330...코팅막

140,240,340...DNA 프로브

150,250...표적 DNA

152,252...형광물질

160,260...광 검출기

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<15> 본 발명은 DNA 칩에 관한 것으로, 보다 상세하게는 DNA 프로브와 표적 DNA의 혼성화 반응에 의한 혼성화 시그날의 검출 감도를 높일 수 있는 다층 박막 구조를 가진 DNA 칩에 관한 것이다.

<16> 최근 생명공학이 발달함에 따라 개체의 유전정보를 구성하는 염기서열이 밝혀지고 있으며, 이에 따라 염기서열 분석 및 질병 진단 등을 목적으로 하는 DNA 칩을 개발하려는 움직임이 활발하다.

<17> DNA 칩은 DNA 분석 시스템의 소형화를 이루어 극미량의 시료만으로도 유전자 분석이 가능하도록 하며, 표적 DNA 상의 여러 군데의 염기서열을 동시에 규명할 수 있어 저렴할 뿐만 아니라 신속하게 유전정보를 제공할 수 있다. 또한, DNA 칩은 방대한 양의 유전정보를 단시간 내에 동시에 분석할 수 있을 뿐만 아니라, 유전자간의 상호 연관성까지 규명할 수 있게 되어, 앞으로 유전병 및 암의 진단, 돌연변이의 탐색, 병원균의 검출, 유전자 발현 분석 및 신약 개발 등 폭넓은 분야에서 응용될 수 있으리라고 예상된다. 또한, 미생물이나 환경오염의 감지기로 이용하여,

해독물질에 대한 유전자를 찾아내어 유전자 재조합 기술을 적용함으로써, 해독물질을 대량 생산하거나 의약품 농작물, 저지방 함유 육류의 생산에도 응용할 수 있는 등 거의 대부분의 생물관련 산업에 이용되어 혁명적인 발전을 가져다 줄 수 있다.

<18> 이와 같은 종래의 DNA 칩의 일례가 도 1과 도 2에 도시되어 있다.

<19> 도 1과 도 2를 함께 참조하면, 종래의 DNA 칩(10)은 기판(11) 상에 다수의 DNA 프로브(14)를 마이크로어레이(microarray) 상태로 배열한 것을 지칭한다. 구체적으로, DNA 칩(10)은, 실리콘 웨이퍼나 유리 등으로 이루어진 기판(11) 상의 수백 내지 수십만 개의 정해진 위치에 염기서열을 알고 있는 단일 가닥(single stranded)의 DNA 프로브들(14)을 스폿(13)의 형태로 고정시킨 칩이다. 일반적으로, 기판(10)의 표면에는 DNA 프로브들(14)을 고정시키기 위해 아민기 또는 알데히드기로 이루어진 코팅막(12)이 형성된다. 이러한 DNA 칩(10) 위에 분석하고자 하는 표적 DNA(target DNA, 15)를 결합 반응시켰을 때, DNA 프로브(14)와 표적 DNA(15) 서로간에 염기서열의 짝이 맞으면 혼성화(hybridization)되어 이중 가닥을 형성한다. 이 때, DNA 프로브(14)와 표적 DNA(15)의 염기서열의 상보적인 정도에 따라 각기 다른 혼성화 정도를 나타낸다. 따라서, DNA 칩(10) 상의 어느 위치의 스폿(13)에서 어느 정도의 혼성화가 이루어졌는지를 검출하면, 표적 DNA(15)의 염기서열을 분석할 수 있다. 혼성화 정도의 검출은, 주로 형광물질(16)로 표지된(tagged) 표적 DNA(15)를 DNA 프로브(14)와 혼성화 반응시킨 뒤, 형광물질(16)로부터 발산되는 시그날을 검출하는 광학적 방법(optical method)에 의해 이루어진다.

<20> 상기한 바와 같은 DNA 칩은 사용된 프로브의 종류에 따라 올리고칩(oligo

chip)과 cDNA 칩으로 구분되기도 하고, 제작된 방법에 따라 포토리소그래피 칩 (photolithography chip), 핀 방식의 스폿팅 칩(spotting chip), 잉크젯 방식의 스폿팅 칩 등으로 분류되기도 한다. 그러나, 현재까지의 DNA 칩의 공통점은 DNA 칩 위에 종류가 다른 단일 가닥의 DNA 프로브가 고정되어 있고, 이 DNA 프로브와 분석하고자 하는 표적 DNA와의 혼성화 정도를 검출하여 원하는 정보를 얻는다는 것이다.

<21> 그러므로, DNA 프로브와 표적 DNA 사이의 혼성화 반응에 의한 시그날을 정확하게 얻어낼 수 있는 DNA 칩을 개발하는 것은 정확한 유전자 분석 결과를 얻는다는 측면에서 매우 중요하다.

<22> 전술한 바와 같이, 종래의 DNA 칩에 있어서는, 대부분 표적 DNA에 형광물질을 표지 하고, 이를 DNA 칩 위의 DNA 프로브와 혼성화 반응시킨 후, 미국특허 제 6,141,096호에 개시된 바와 같이 공촛점 현미경(confocal microscope)이나 CCD 카메라를 사용하여 DNA 칩 표면에 남은 형광물질로부터 발산되는 시그날을 검출하게 된다.

<23> 이러한 광학적 검출방법에 있어서, 공촛점 현미경을 사용하는 경우 해상도는 우수 하나 검출 시간이 비교적 많이 소요되는 단점이 있는 반면에, CCD 카메라를 사용하는 경우 검출 속도는 빠르지만 다소 해상도가 떨어지는 단점이 있다. 따라서, 혼성화 시그날의 검출시, 비교적 값이 비싼 공촛점 유형의 스캐너를 사용하지 않고 비교적 값이 저렴하고 검출 속도가 빠른 CCD 유형의 스캐너로도 검출이 가능하도록 하기 위하여, 표적 DNA에 부착된 형광물질의 양을 증가시키려는 다양한 연구가 진행 중이다. 예를 들어, 미국특허 제 6,117,631호에 개시된 3차원의 하이드로젤 패드를 이용하는 방법 등의 많은 새로운 시도가 행해지고 있다.

<24> 그러나, 상기한 광학적 검출 방법에 있어서는 작은 양의 혼성화 시그널을 검출하는데 어려움이 있으며, 스폿 주변에서 발생하는 배경 시그널에 의한 노이즈로 인하여 혼성화 시그널을 정확하게 검출하는데 어려움이 있다는 문제점을 가지고 있다.

<25> 따라서, 상술한 바와 같이 DNA 프로브와 표적 DNA의 상보적인 결합을 이용하는 DNA 칩에 있어서, 혼성화 시그널을 광학적 방법에 의해 보다 정확하게 검출하기 위해서는 혼성화 시그널과 배경 시그널의 차이를 가능한 한 크게 하여 혼성화 시그널의 검출 감도를 보다 높일 필요가 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<26> 본 발명은 상기와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위하여 창출된 것으로서, 특히 DNA 프로브와 표적 DNA의 혼성화 반응에 의한 혼성화 시그널의 검출 감도를 높일 수 있도록 고반사 영역과 저반사 영역으로 구획된 다층 박막 구조를 가진 DNA 칩을 제공하는데 그 목적이 있다.

【발명의 구성 및 작용】

<27> 상기의 기술적 과제를 달성하기 위한 본 발명에 따른 DNA 칩은,

<28> 기판;

<29> 상기 기판 상의 소정 위치에 순차 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막과 상대적으로 큰 굴절률을 가진 고굴절률 박막으로 이루어지며, 상기 기판의 반사율보다 높은 반사율을 가지는 고반사 영역;

- <30> 상기 기관 상에 상기 고반사 영역 주위에 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막으로 이루어지며, 상기 기관의 반사율보다 낮은 반사율을 가지는 저반사 영역; 및
- <31> 적어도 상기 고반사 영역 위에 고정되는 DNA 프로브;를 구비하며,
- <32> 상기 고반사 영역 위에서 상기 DNA 프로브와 형광물질로 표지된 표적 DNA의 혼성화 반응이 일어나는 것을 특징으로 한다.
- <33> 여기에서, 상기 고반사 영역은 상기 저굴절률 박막과 상기 고굴절률 박막이 교대로 복수회 반복하여 적층되어 이루어질 수 있으며, 상기 저반사 영역은 상기 저굴절률 박막이 복수회 적층되어 이루어질 수 있다.
- <34> 그리고, 상기 형광물질의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 상기 고굴절률 박막의 굴절률과 상기 저굴절률 박막의 굴절률을 각각 n_H 와 n_L 이라 할 때, 상기 고반사 영역의 상기 고굴절률 박막의 두께는 $\lambda_F/4n_H$ 의 70% ~ 130% 범위 내이며, 상기 고반사 영역의 상기 저굴절률 박막의 두께는 $\lambda_F/4n_L$ 의 70% ~ 130% 범위 내인 것이 바람직하다. 특히, 상기 고반사 영역의 상기 고굴절률 박막의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_H$ 이며, 상기 고반사 영역의 상기 저굴절률 박막의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_L$ 인 것이 더욱 바람직하다.
- <35> 또한, 상기 형광물질의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 상기 저굴절률 박막의 굴절률을 n_L 이라 할 때, 상기 저반사 영역의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_L$ 의 홀수배인 것이 바람직하다.
- <36> 그리고, 상기 고굴절률 박막은 2.0~2.5 범위의 굴절률을 갖는 TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 및 Ta_2O_5 로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나의 금속산화물로 이루어질 수 있다.

- <37> 또한, 상기 기판은 실리콘 웨이퍼, 유리, 석영 및 플라스틱으로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나로 이루어질 수 있다.
- <38> 또한, 상기 고반사 영역과 저반사 영역의 표면에는 상기 DNA 프로브를 고정시키기 위한 코팅막이 형성될 수 있으며, 상기 코팅막은 아민기와 알데히드기 중 어느 하나로 이루어진 것이 바람직하다.
- <39> 이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명에 따른 다층 박막 구조를 가진 DNA 칩의 바람직한 실시예들을 상세히 설명한다. 이하의 도면들에서 동일한 참조부호는 동일한 구성요소를 가리킨다.
- <40> 도 3은 본 발명의 바람직한 제1 실시예에 따른 DNA 칩의 평면 구조를 개략적으로 도시한 사시도이고, 도 4는 도 3에 도시된 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다.
- <41> 도 3과 도 4를 함께 참조하면, 본 발명의 제1 실시예에 따른 DNA 칩(100)은, 기판(110)과, 상기 기판(110) 상에 마련된 고반사 영역(H) 및 저반사 영역(L)과, 적어도 상기 고반사 영역(H)의 표면에 고정된 DNA 프로브(140)를 구비한다.
- <42> 상기 고반사 영역(H)은 기판(110)의 반사율보다 높은 반사율을 가지는 영역으로서, 기판(110) 상에 다수개가 마이크로어레이(microarray) 상태로 배열된다. 그리고, 상기 저반사 영역(L)은 기판(110)의 반사율보다 낮은 반사율을 가지는 영역으로서, 기판(110) 상에 다수의 고반사 영역(H) 각각의 주위에 형성된다.

- <43> 상기 기판(110)으로는 굴절률이 3.5인 실리콘 웨이퍼가 사용될 수 있다. 한편, 상기 기판(110)으로서 실리콘 웨이퍼 대신에 유리, 석영 또는 플라스틱 등의 고체 기판을 사용할 수도 있다.
- <44> 상기 기판(110) 상에는 상대적으로 낮은 굴절률을 가진 제1 박막(121)이 적층된다. 상기 제1 박막(121)은 예컨대, 굴절률이 1.45인 실리콘 산화물(SiO_2)로 이루어질 수 있다.
- <45> 상기 제1 박막(121) 위에는 상대적으로 높은 굴절률을 가진 제2 박막(122)과 상대적으로 낮은 굴절률을 가진 제3 박막(123)이 적층된다. 구체적으로, 상기 고반사 영역(H)에서는 제1 박막(121) 위에 고굴절률의 제2 박막(122)이 형성되고, 상기 저반사 영역(L)에서는 제1 박막(121) 위에 저굴절률의 제3 박막(123)이 형성된다. 상기 제2 박막(122)은 예컨대, 굴절률이 2.3인 티타늄 산화물(TiO_2)로 이루어질 수 있으며, 상기 제3 박막(123)은 제1 박막(121)과 같이 굴절률이 1.45인 실리콘 산화물(SiO_2)로 이루어질 수 있다. 한편, 상기 제2 박막(122)은 TiO_2 뿐만 아니라 2.0~2.5 범위의 굴절률을 갖는 ZrO_2 , CeO_2 또는 Ta_2O_5 와 같은 금속산화물로 이루어질 수도 있다.
- <46> 따라서, 상기 고반사 영역(H)은 저굴절률의 제1 박막(121)과 고굴절률의 제2 박막(122)이 순차 적층된 구조를 가지며, 상기 저반사 영역(L)은 저굴절률의 제1 및 제3 박막(121, 123)이 적층된 구조를 가진다.
- <47> 상기한 바와 같이 고반사 영역(H)은 저굴절률의 제1 박막(121)과 고굴절률의 제2 박막(122)이 순차 적층된 다층 박막의 구조를 가지는데, 이러한 다층 박막의 반사율은 기판(110)의 반사율보다 높아지는 것으로 잘 알려져 있다.

<48> 이하에서는, 이러한 다층 박막의 반사율에 대해서 아래 수학적 1, 2 및 3을 참조하며 간략하게 설명하기로 한다.

<49> 먼저 아래 수학적 1은 입사광(incident light)의 전기장 벡터(electric vector)의 진폭 B와 자기장 벡터(magnetic vector)의 진폭 C를 매트릭스 폼(matrix form)으로 나타낸 것이다.

<50>

$$\text{【수학적 1】} \begin{bmatrix} B \\ C \end{bmatrix} = \left\{ \prod_{r=1}^q \begin{bmatrix} \cos \delta_r & (i \sin \delta_r)/n_r \\ i n_r \sin \delta_r & \cos \delta_r \end{bmatrix} \right\} \begin{bmatrix} 1 \\ n_m \end{bmatrix}$$

<51> 위 수학적 1에서, q는 적층된 박막의 수를 가리키며, n_r 과 n_m 은 각각 박막의 굴절률과 기판의 굴절률을 가리킨다. 그리고, δ_r 은 박막의 두께를 d라 할 때 $(2\pi n_r \cdot d)/\lambda$ 로 표현된다. 여기에서, λ 는 입사광의 파장을 가리킨다.

<52> 상기 수학적 1로부터 다층 박막의 반사율 R에 관한 아래 수학적 2가 유도될 수 있다.

<53>

$$\text{【수학적 2】} R = \left(\frac{n_0 B - C}{n_0 B + C} \right) \cdot \left(\frac{n_0 B - C}{n_0 B + C} \right)^*$$

<54> 그리고, C/B를 어드미턴스(admittance) Y로 정의하면, 위 수학적 2는 아래 수학적 3으로 변환될 수 있다.

<55>

$$\text{【수학적 3】} R = \left[\frac{n_0 - Y}{n_0 + Y} \right] \cdot \overline{\left[\frac{n_0 - Y}{n_0 + Y} \right]}$$

<56> 상기한 수학적 1, 2 및 3로부터 저굴절률의 박막과 고굴절률의 박막이 적층된 다층 박막의 반사율은 기판의 반사율보다 높아진다는 것을 알 수 있다. 특히, 박막의 층수가 많을수록 그 반사율은 점차 높아진다는 것도 알 수 있다.

<57> 그리고, 저굴절률의 박막과 고굴절률의 박막이 각각 1/4 파장의 광학 두께를 가지는 경우에, 다층 박막의 반사율이 가장 높아진다는 것도 알려져 있다. 따라서, 저굴절률의 박막과 고굴절률의 박막 각각은 아래 수학적 4를 만족하는 두께를 가지는 것이 바람직하다.

<58> **【수학적 4】** $n_r d = (1/4)\lambda$

<59> 위 수학적 4에서, n_r 은 박막의 굴절률을 가리키고, d 는 박막의 두께를 가리키며, λ 는 입사광의 파장을 가리킨다.

<60> 다시 도 4를 참조하면, 본 발명의 제1 실시예에 있어서, 상기 고반사 영역(H)의 저굴절률의 제1 박막(121)과 고굴절률의 제2 박막(122) 각각의 두께는 위 수학적 4을 이용하여 아래와 같이 정해지는 것이 바람직하다.

<61> 후술하는 형광물질(152)의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 상기 저굴절률의 제1 박막(121)의 굴절률을 n_L 이라 할 때, 상기 제1 박막(121)의 두께는 대략 $\lambda_F/4n_L$ 의 70% ~ 130% 정도의 범위 내에서 정해진다. 그리고, 상기 고굴절률의 제2 박막(122)의 굴절률을 n_H 라 할 때, 상기 제2 박막(122)의 두께는 대략 $\lambda_F/4n_H$ 의 70% ~ 130% 정도의 범위 내에서 정해진다. 상기 제1 박막(121)과 제2 박막(122)을 각각 $\lambda_F/4n_L$ 와 $\lambda_F/4n_H$ 의 두께로 맞추는 것이 가장 바람직하나, 기판(110)상에 제1 박막(121)과 제2 박막(122)을 수십 nm 정도의 두께로 정확히 적층하는 것은 제조상 매우 곤란하다. 또한, 제1 박막(121)과 제2 박막(122)의 두께가 가장 바람직한 두께의 70% ~ 130% 정도의 범위를 가진다 하더라도, 그 범위 내에서는 도 6과 도 7의 그래프에 도시된 바와 같이 기판(110)의 반사율에 비해 충분히 높은 고반사 영역(H)의 반사율을 얻을 수 있다.

- <62> 한편, 상기 저반사 영역(L)은 저굴절률의 제1 박막(121)과 제3 박막(123) 만으로 이루어지므로, 상기한 바와 같은 다층 박막의 특성을 나타내지 못한다. 따라서, 저반사 영역(L)의 전체 두께는, 박막의 광학 두께가 1/2 파장의 정수배, 즉 1/4 파장의 짝수배일 때, 기판의 반사율과 같아지고, 1/4 파장의 홀수배일 때 반사율이 가장 낮아진다는 점을 이용하여 결정한다.
- <63> 이에 따라, 형광물질의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 저굴절률의 제1 및 제3 박막(121, 123)의 굴절률을 n_L 이라 할 때, 저반사 영역(L)의 전체 두께는 실질적으로 $\lambda_F / 4n_L$ 의 홀수배가 되는 것이 가장 바람직하다. 다만, 고반사 영역(H)의 전체 두께와 저반사 영역(L)의 전체 두께가 차이가 있어서 단차가 심한 경우에는, 저반사 영역(L)의 전체 두께를 상기 단차를 줄이는 쪽으로 조절할 수 있다. 이 경우, 저반사 영역(L)의 전체 두께는 그 반사율이 기판(110)의 반사율보다 충분히 낮게 나타나는 범위 내에서 조절되는 것이 바람직하다.
- <64> 이와 같이 본 발명의 제1 실시예에 따르면, 저굴절률의 제1 박막(121)과 고굴절률의 제2 박막(122)이 순차 적층된 구조를 가지는 고반사 영역(H)은 기판(110)의 반사율보다 높은 반사율을 나타내는데 반해, 저굴절률의 제1 및 제3 박막(121, 123)으로 이루어진 저반사 영역(L)은 기판(110)의 반사율보다 낮은 반사율을 나타낸다.
- <65> 그리고, 상기 고반사 영역(H) 위에는 염기서열을 알고 있는 단일 가닥의 DNA 프로브(140)가 전술한 바와 같은 다양한 방법에 의해 고정된다. 이를 위해, 고반사 영역(H)과 저반사 영역(L)의 표면에는 아민기 또는 알데히드기로 이루어진 코팅막(130)이 형성될 수 있다.

<66> 한편, 도면에는 DNA 프로브(140)가 고반사 영역(H) 위에만 고정되어 있는 것으로 도시되어 있으나, 상기 DNA 프로브(140)는 고반사 영역(H)뿐만 아니라 저반사 영역(L) 위에도 고정될 수 있다. 다시 설명하면, 전자의 경우에는 DNA 프로브(140)가 고반사 영역(H) 위에만 고정되어 있으므로, 표적 DNA(150)를 DNA 칩(100)의 전 표면에 흘려주면, 고반사 영역(H) 위에서만 혼성화 반응이 일어나게 된다. 반면에, 후자의 경우에는 DNA 프로브(140)가 고반사 영역(H) 뿐만 아니라 저반사 영역(L) 위에도 고정되어 있으므로, 표적 DNA(150)를 고반사 영역(H) 위에만 떨어뜨려 줌으로써 고반사 영역(H) 위에서만 혼성화 반응이 일어나도록 할 수 있다.

<67> 이와 같은 구성을 가진 본 발명의 제1 실시예에 따른 DNA 칩(100)의 표면에 형광물질(152)로 표지된 표적 DNA(150)를 결합 반응시켰을 때, DNA 프로브(140)와 표적 DNA(150) 서로간에 염기서열의 짝이 맞으면 혼성화(hybridization)되어 이중 가닥을 형성한다. 이 때, DNA 프로브(140)와 표적 DNA(150)의 염기서열의 상보적인 정도에 따라 각기 다른 혼성화 정도를 나타낸다. 이어서, 세척 과정을 거치게 되면, DNA 프로브(140)와 혼성화되어 이중 가닥을 형성한 표적 DNA(150)만 DNA 칩(100) 상에 잔존하고, 이중 가닥을 형성하지 못한 표적 DNA는 제거된다. 그러나, 이 때 저반사 영역(L)에도 형광물질(152)로 표지된 표적 DNA(150)가 완전히 제거되지 못하고 소량 잔존할 수 있다.

<68> 이어서, LED, LD 또는 할로겐 램프 등의 광원(미도시)으로부터 여기광을 조사하면, 형광물질(152)은 여기되고 스톡스 법칙(Stokes' Law)에 의해 여기 파장 보다 긴 파장, 즉 에미션 파장(λ_F)을 가진 형광 시그날이 형광물질(152)로부터 발산되며, 발산된 형광 시그날은 광 검출기(160)에서 검출된다.

<69> 상기 형광 시그날의 강도(S_F)는 아래 수학적 식 5로 나타낼 수 있다.

<70>

【수학식 5】
$$S_F = \int_{emission} F(\lambda) d\lambda$$

<71>

위 수학식 5에서, $F(\lambda)$ 는 형광 시그날의 진폭을 파장의 함수로 표현한 것이다.

<72>

그런데, 광 검출기(160)에서 검출되는 고반사 영역(H)의 혼성화 시그날에는 형광물질(152)로부터 직접 발산되는 상기 형광 시그날뿐만 아니라 고반사 영역(H)의 다층 박막으로부터 반사되는 형광 시그날의 반사 시그날도 포함된다.

<73>

따라서, 고반사 영역(H)의 혼성화 시그날의 강도(S_H)는 아래 수학식 6으로 나타낼 수 있다.

<74>

【수학식 6】
$$S_H = \int_{emission} F(\lambda) d\lambda + \int_{reflection} F(\lambda) R_H(\lambda) d\lambda$$

<75>

위 수학식 6에서, $R_H(\lambda)$ 는 상기한 수학식 1, 2 및 3으로부터 산출된 고반사 영역(H)의 반사율(R_H)을 파장의 함수로 표현한 것이다.

<76>

위 수학식 6을 보면, 고반사 영역(H)의 반사율(R_H)이 높아질 수록 반사 시그날의 강도가 높아지게 되고, 이에 따라 혼성화 시그날의 강도(S_H)도 높아진다는 것을 알 수 있다.

<77>

한편, 광 검출기(160)에서 검출되는 저반사 영역(L)의 배경 시그날에는 전술한 바와 같이 저반사 영역(L)에 잔존하는 형광물질에 의한 형광 시그날과, 그 형광 시그날의 반사 시그날이 포함되며, 또한 광원으로부터 조사되는 여기광의 반사 시그날도 포함된다. 따라서, 저반사 영역(L)의 배경 시그날의 강도(S_B)는 아래 수학식 7로 나타낼 수 있다.

<78> **【수학식 7】**
$$S_B = \int_{\text{emission}} F(\lambda) d\lambda + \int_{\text{reflection}} F(\lambda) R_L(\lambda) d\lambda + \int_{\text{reflection}} I(\lambda) R_L(\lambda) d\lambda$$

<79> 위 수학식 7에서, $I(\lambda)$ 는 광원으로부터 조사되는 여기광의 진폭을 파장(λ)의 함수로 나타낸 것이며, $R_L(\lambda)$ 는 상기한 수학식 1, 2 및 3으로부터 산출된 저반사 영역(L)의 반사율(R_L)을 파장의 함수로 표현한 것이다.

<80> 위 수학식 7을 보면, 저반사 영역(L)의 반사율(R_L)이 낮아질 수록 반사 시그널의 강도가 낮아지게 되고, 이에 따라 배경 시그널의 강도(S_L)도 낮아진다는 것을 알 수 있다.

<81> 상기한 바와 같이 본 발명에 의하면, DNA 프로브(140)와 표적 DNA(150)의 혼성화 반응에 의한 혼성화 시그널의 강도(S_H)는 고반사 영역(H)에서의 높은 반사율(R_H)로 인해 보다 높아지게 되고, 노이즈로 작용하는 배경 시그널의 강도(S_B)는 저반사 영역(L)에서의 낮은 반사율(R_L)로 인해 보다 낮아지게 된다. 따라서, 광 검출기(160)에서의 혼성화 시그널의 검출 감도가 높아지게 된다.

<82> 도 5는 본 발명의 바람직한 제2 실시예에 따른 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다. 전술한 본 발명의 제1 실시예에서 고반사 영역과 저반사 영역은 각각 두 개의 박막으로 이루어지지만, 도 5에 도시된 본 발명의 제2 실시예에서는 고반사 영역과 저반사 영역 각각은 보다 많은 박막으로 이루어지는 점에 그 특징이 있다.

<83> 도 5를 참조하면, 본 발명의 제2 실시예에 따른 DNA 칩(200)에 있어서, 고반사 영역(H)은 기판(210) 상에 저굴절률의 제1 박막(221)과 고굴절률의 제2 박막(222)이 교대로 복수회 반복하여 적층되어 이루어진다. 그리고, 저반사 영역(L)은 기판(210) 상에 저

굴절률의 제1 박막(221)과 역시 저굴절률의 제3 박막(223)이 복수회 적층되어 이루어진다.

<84> 상기 기판(210)으로는 전술한 제1 실시예에서와 같이 굴절률이 3.5인 실리콘 웨이퍼 또는 유리, 석영, 플라스틱 등의 고체 기판이 사용될 수 있다. 그리고, 상기 고굴절률의 제2 박막(222)과 저굴절률의 제1 및 제3 박막(221, 223) 각각도 전술한 제1 실시예에서와 같이 티타늄 산화물과 실리콘 산화물로 이루어질 수 있다.

<85> 상기 고반사 영역(H)의 저굴절률의 제1 박막(221)과 고굴절률의 제2 박막(222) 각각의 두께는 전술한 제1 실시예와 같은 방식으로 결정된다. 또한, 상기 저반사 영역(L)의 전체 두께도 전술한 제1 실시예와 같은 방식으로 결정된다. 다만, 고반사 영역(H)의 전체 두께가 두꺼워짐에 따라 저반사 영역(L)은 실질적으로 $\lambda_F/4n_L$ 의 3배, 5배 또는 7배 등 홀수배의 두께를 가지게 된다.

<86> 상기 고반사 영역(H)과 저반사 영역(L)의 표면에는 DNA 프로브(240)를 고정시키기 위하여 아민기 또는 알데히드기로 이루어진 코팅막(130)이 형성되며, 적어도 상기 고반사 영역(H) 위에는 염기서열을 알고 있는 단일 가닥의 DNA 프로브(240)가 고정된다.

<87> 이와 같은 구성을 가진 본 발명의 제2 실시예에 따른 DNA 칩(200)에 있어서, 상기 고반사 영역(H)은 저굴절률의 제1 박막(221)과 고굴절률의 제2 박막(222)이 교대로 복수회 반복하여 적층된 구조를 가지므로, 상기한 수학식 1, 2 및 3을 참조하며 설명한 바와 같이 고반사 영역(H)의 반사율은 보다 높아지게 된다.

<88> 따라서, 상기 DNA 칩(200)의 표면에 형광물질(252)로 표지된 표적 DNA(250)를 결합 반응시켰을 때, DNA 프로브(240)와 표적 DNA(250)의 혼성화 반응에 의한 혼성화 시그널

의 강도(S_H)가 제1 실시예에서 보다 높아지게 되어 광 검출기(260)에서의 혼성화 시그날의 검출 감도가 보다 높아지게 된다.

<89> 도 6은 본 발명의 바람직한 제3 실시예에 따른 DNA 칩의 적층 구조를 도시한 부분 단면도이다. 전술한 본 발명의 제1 실시예와 제2 실시예에서 저반사 영역은 복수의 층으로 적층된 저굴절률 박막으로 이루어지지만, 도 6에 도시된 본 발명의 제3 실시예에서는 저반사 영역이 한 층의 저굴절률 박막으로 이루어지는 점에 그 특징이 있다.

<90> 도 6을 참조하면, 본 발명의 제3 실시예에 따른 DNA 칩(300)에 있어서, 고반사 영역(H)은 기판(310) 상에 순차 적층된 저굴절률의 제1 박막(321)과 고굴절률의 제2 박막(322)으로 이루어진다. 상기 제1 박막(321)과 제2 박막(322)은 제2 실시예에서와 같이 교대로 복수회 반복하여 적층될 수 있다.

<91> 그리고, 저반사 영역(L)은 기판(310) 상에 적층된 한 층의 저굴절률의 제3 박막(323)으로 이루어진다.

<92> 고반사 영역(H)의 제1 및 제2 박막(321, 322)과 저반사 영역(L)의 제3 박막(323) 각각의 물질과 두께는 전술한 실시예들과 동일하며, 고반사 영역(H)과 저반사 영역(L)의 표면에 코팅막(330)이 형성되는 점과 고반사 영역(H) 위에 염기서열을 알고 있는 단일 가닥의 DNA 프로브(340)가 고정되는 점도 전술한 실시예들과 동일하다.

<93> 이에 따라 본 발명의 제3 실시예에 따른 DNA 칩(300)도 전술한 실시예들과 동일한 효과를 가진다. 더욱이, 상기한 바와 같이 저반사 영역(L)이 한 층의 저굴절률 박막(323)으로 이루어지므로, DNA 칩(300)의 제조에 있어서 박막들의 적층이 전술한 실시예들 보다 쉬운 장점이 있다.

- <94> 이하에서는 도 4에 도시된 본 발명의 제1 실시예에 따른 DNA 칩(100)에서의 고반사 영역(H) 및 저반사 영역(L) 각각의 반사율과, 이에 따른 혼성화 시그널 및 배경 시그널의 강도에 대한 실험 결과를 설명하기로 한다.
- <95> 이 실험에서, 기판(110)으로는 굴절률이 3.5인 실리콘 웨이퍼가 사용되었고, 저굴절률의 제1 박막(121)과 제3 박막(123)으로는 굴절률(n_L)이 1.45인 실리콘 산화물(SiO_2)을 사용하였으며, 고굴절률의 제2 박막(122)으로는 굴절률(n_H)이 2.3인 티타늄 산화물(TiO_2)을 사용하였다. 표적 DNA(150)의 형광물질(152)로는 에미션 파장(λ_F)이 550nm 인 것이 사용되었다.
- <96> 그리고, 상기한 고반사 영역(H)의 박막 두께 결정 방식에 따라 제 박막(121)은 94.18nm ($\lambda_F/4n_H$ 의 대략 99%)의 두께를 가지도록 적층되었으며, 제2 박막(122)은 57.65nm ($\lambda_F/4n_L$ 의 대략 96%)의 두께를 가지도록 적층되었다. 한편, 상기한 저반사 영역(L)의 두께 결정 방식에 의하면 제3 박막(123)은 없는 것이 바람직하나, 전술한 바와 같이 고반사 영역(H)과 저반사 영역(L)의 두께 차이에 따른 단차를 최소화하기 위하여 제3 박막(123)을 29.26nm 의 두께를 가지도록 적층하여 저반사 영역(L)의 전체 두께를 123.44nm ($\lambda_F/4n_L$ 의 대략 130%)로 하였다.
- <97> 상기한 바와 같이 구성된 DNA 칩(100)의 고반사 영역(H)과 저반사 영역(L) 각각의 반사율(R_H , R_L)을 상기한 수학식 1, 2 및 3에 의해 계산해 보면 도 7 및 도 8과 같은 그래프를 얻을 수 있다.

<98> 도 7의 그래프를 보면, 고반사 영역(H)의 반사율은 대략 400nm ~ 700nm의 파장 범위에서 기판의 반사율보다 높다는 것을 알 수 있다. 특히, 고반사 영역(H)의 반사율은 형광물질의 에미션 파장(λ_F)인 550nm 부근에서 가장 높게 나타남을 알 수 있다.

<99> 그리고, 도 8의 그래프를 보면, 저반사 영역(L)의 반사율은 대략 400nm ~ 700nm의 파장 범위에서 기판의 반사율보다 낮다는 것을 알 수 있다. 그런데, 저반사 영역(L)의 반사율은 대략 700nm의 파장 부근에서 가장 낮게 나타나는데, 이는 저반사 영역(L)의 전체 두께를 상기한 바와 같이 $\lambda_F/4n_L$ 의 대략 130%로 한 결과이다. 그러나, 형광물질의 에미션 파장(λ_F)인 550nm 부근에서도 저반사 영역(L)의 반사율은 기판의 반사율에 비해 충분히 낮다는 것을 알 수 있다.

<100> 상기한 바와 같은 반사율을 가지는 고반사 영역(H)의 혼성화 시그날의 강도(S_H)와 저반사 영역(L)의 배경 시그날의 강도(S_B)를 상기한 수학적식 5, 6 및 7에 의해 계산해 보면 아래 표 1과 같은 결과를 얻을 수 있다.

<101> 【표 1】

구 분	종래의 Si 기판	본 발명의 다중박막	비 고
혼성화 시그날의 강도(S_F)	11282529	15395772	38.5% 증가
배경 시그날의 강도(S_B)	9576788	7539443	21.3% 감소
S_F/S_B	1.17	2.05	74.2% 증가

<102> 표 1을 보면, 본 발명에 따른 DNA 칩의 고반사 영역(H)에서 검출되는 혼성화 시그날의 강도(S_H)는 종래의 실리콘 기판에 비해 대략 38.5% 증가하였음을 알 수 있으며, 본 발명에 따른 DNA 칩의 저반사 영역(L)에서 검출되는 배경 시그날의 강도(S_B)는 종래의 실리콘 기판에 비해 대략 21.3% 감소하였음을 알 수 있다.

- <103> 따라서, 혼성화 시그날의 검출 감도와 직접적으로 관계되는 혼성화 시그날의 강도 대 배경 시그날의 강도의 비율(S_H/S_B)은 본 발명에 따른 DNA 칩에서 종래에 비해 대략 74.2% 증가하게 된다.
- <104> 이와 같이 혼성화 시그날의 검출 감도가 높아지게 되면 보다 정확한 혼성화 시그날을 얻을 수 있게 되므로, 표적 DNA의 염기서열을 보다 정확하게 분석할 수 있게 된다.
- <105> 본 발명은 개시된 실시예를 참고로 설명되었으나, 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 분야에서 통상적 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위에 의해서 정해져야 할 것이다.

【발명의 효과】

- <106> 이상에서 설명된 바와 같이 본 발명에 따른 DNA 칩은 고반사 영역과 저반사 영역을 가진 다층 박막 구조로 제조된다. DNA 프로브와 표적 DNA의 혼성화 반응에 의한 혼성화 시그날은 고반사 영역에서의 높은 반사율로 인해 그 강도가 보다 높아지게 되고, 배경 시그날은 저반사 영역에서의 낮은 반사율로 인해 그 강도가 보다 낮아지게 된다. 따라서, 혼성화 시그날의 검출 감도가 높아지게 되어 보다 정확한 혼성화 시그날을 얻을 수 있게 된다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

기관;

상기 기관 상의 소정 위치에 순차 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막과 상대적으로 큰 굴절률을 가진 고굴절률 박막으로 이루어지며, 상기 기관의 반사율보다 높은 반사율을 가지는 고반사 영역;

상기 기관 상에 상기 고반사 영역 주위에 적층된 상대적으로 작은 굴절률을 가진 저굴절률 박막으로 이루어지며, 상기 기관의 반사율보다 낮은 반사율을 가지는 저반사 영역; 및

적어도 상기 고반사 영역 위에 고정되는 DNA 프로브;를 구비하며,

상기 고반사 영역 위에서 상기 DNA 프로브와 형광물질로 표지된 표적 DNA의 혼성화 반응이 일어나는 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 2】

제 1항에 있어서,

상기 고반사 영역은 상기 저굴절률 박막과 상기 고굴절률 박막이 교대로 복수회 반복하여 적층되어 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 3】

제 1항에 있어서,

상기 저반사 영역은 상기 저굴절률 박막이 복수회 적층되어 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 4】

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 형광물질의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 상기 고굴절률 박막의 굴절률과 상기 저굴절률 박막의 굴절률을 각각 n_H 와 n_L 이라 할 때, 상기 고반사 영역의 상기 고굴절률 박막의 두께는 $\lambda_F/4n_H$ 의 70% ~ 130% 범위 내이며, 상기 고반사 영역의 상기 저굴절률 박막의 두께는 $\lambda_F/4n_L$ 의 70% ~ 130% 범위 내인 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 5】

제 4항에 있어서,

상기 고반사 영역의 상기 고굴절률 박막의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_H$ 이며, 상기 고반사 영역의 상기 저굴절률 박막의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_L$ 인 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 6】

제 1항 또는 제 3항에 있어서,

상기 형광물질의 에미션 파장을 λ_F 라 하고, 상기 저굴절률 박막의 굴절률을 n_L 이라 할 때, 상기 저반사 영역의 두께는 실질적으로 $\lambda_F/4n_L$ 의 홀수배인 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 7】

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 고굴절률 박막은 2.0~2.5 범위의 굴절률을 갖는 TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 및 Ta_2O_5 로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나의 금속산화물로 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 8】

제 1항 또는 제 3항에 있어서,

상기 저굴절률 박막은 실리콘 산화물로 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 9】

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 기판은 실리콘 웨이퍼, 유리, 석영 및 플라스틱으로 이루어진 군 중에서 선택된 어느 하나로 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【청구항 10】

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 고반사 영역과 저반사 영역의 표면에는 상기 DNA 프로브를 고정시키기 위한 코팅막이 형성된 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

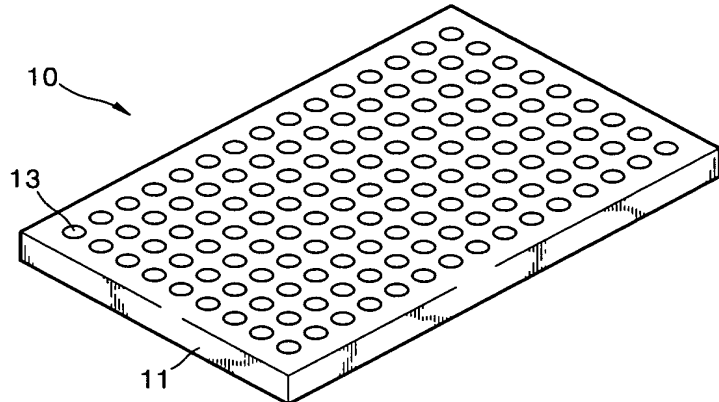
【청구항 11】

제 10항에 있어서,

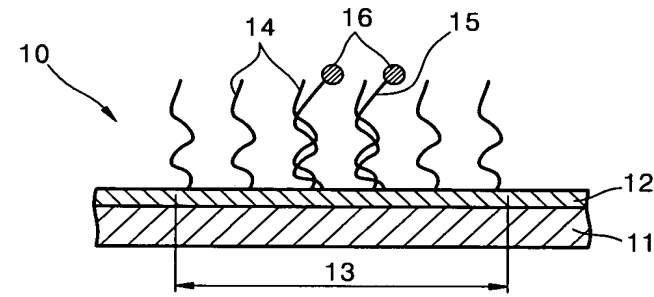
상기 코팅막은 아민기와 알데히드기 중 어느 하나로 이루어진 것을 특징으로 하는 DNA 칩.

【도면】

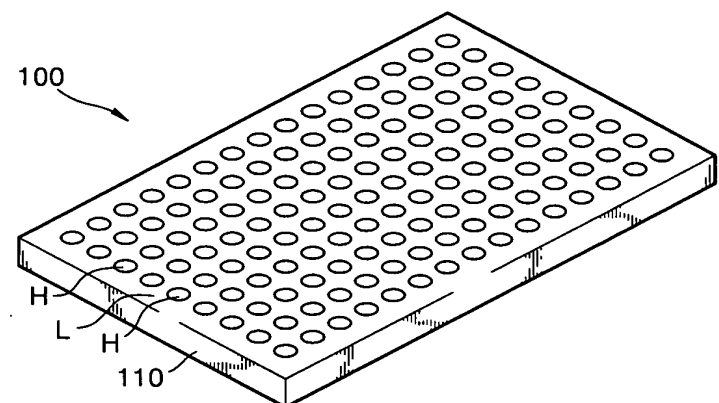
【도 1】



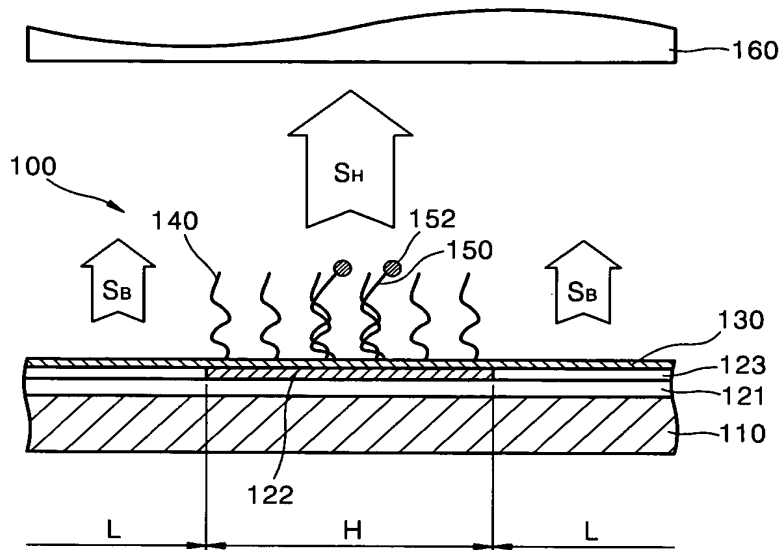
【도 2】



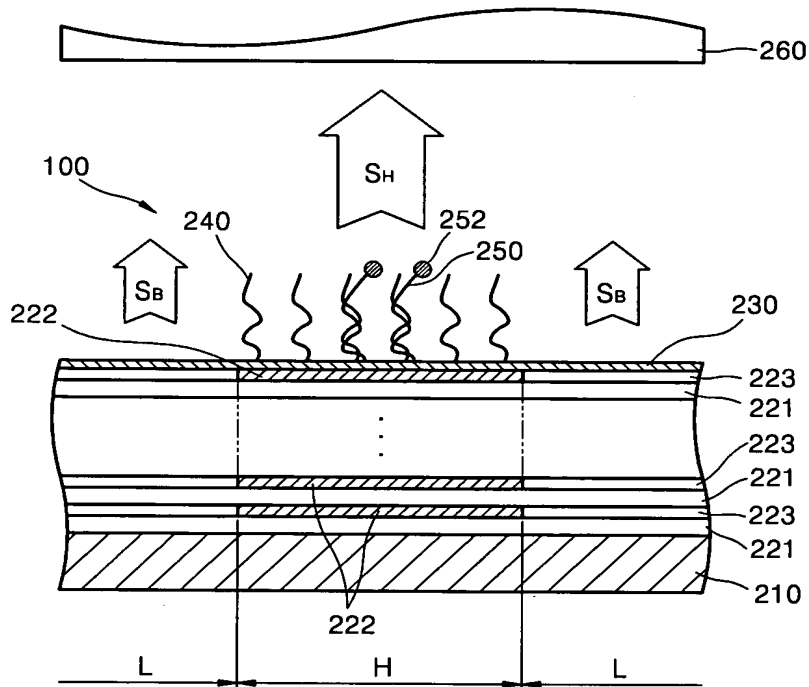
【도 3】



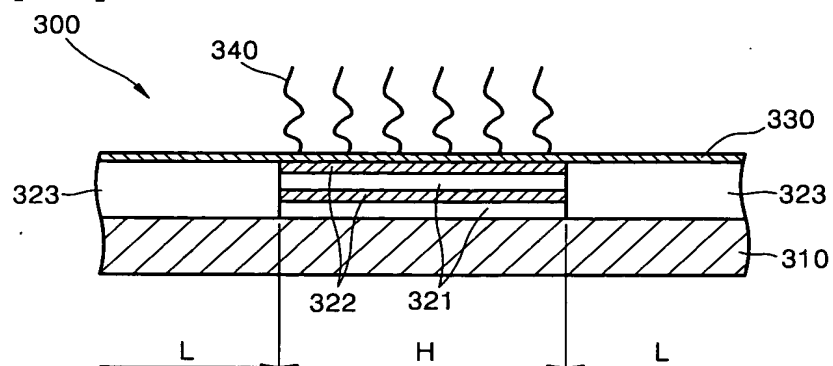
【도 4】



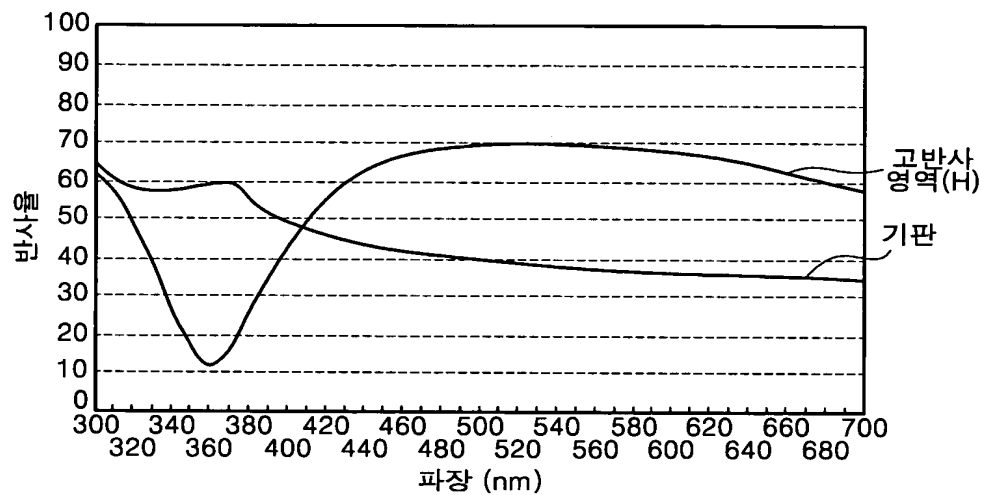
【도 5】



【도 6】



【도 7】



【도 8】

